Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, P. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sonderabdruck aus 42. Band, 2. und 3. Heft.

Giacomo Pighini:

Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen.

I. Über die Indophenol-Oxydase im Zentralnervensystem, in der Tela chorioidea und in der Cerebrospinalflüssigkeit.

Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1912.

Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen und in Bänden von ca. 32 Bogen vereinigt werden sollen. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 14,—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an einen der Herausgeber in **Berlin,**

Herrn Prof. Dr. E. Salkowski, NW. 6, Charité, Schumannstr. 20
oder Herrn Prof. Dr. N. Zuntz, NW. 23, Lessingstr. 50
oder an den Redakteur,

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Charlottenburg 2, Grolmanstr. 12, zu richten.

Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16 seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40,— gezahlt.

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer
Berlin W. 9, Linkstraße 23/24.

---

42. Band. Inhaltsverzeichnis. 2. und 3. Heft.

Seite

Mondschein, Julius. Quantitative Bestimmung der Milchsäure neben β-Oxybuttersäure 91

Mondschein, Julius. Über die quantitative Bestimmung von Milchsäure bei Gegenwart von Eiweißkörpern 105

Pighini, Giacomo. Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen. I. Über die Indophenol-Oxydase im Zentralnervensystem, in der Tela chorioidea und in der Cerebrospinalflüssigkeit . . 124

Pighini, Giacomo und **Pietro Barbieri.** Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen. II. Untersuchungen über die Katalase im Liquor cerebrospinalis 137

Pighini, Giacomo und **Flaminio Nizzi.** Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen. III. Aufsuchung der Esterase und der Lecithase in der normalen und pathologischen Cerebrospinalflüssigkeit 145

Loewe, Siegfried. Zur physikalischen Chemie der Lipoide. I. . . . 150

Loewe, Siegfried. Zur physikalischen Chemie der Lipoide. II. . . . 190

Loewe, Siegfried. Zur physikalischen Chemie der Lipoide. III. . . . 205

Loewe, Siegfried. Zur physikalischen Chemie der Lipoide. IV. . . . 207

Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. XVI. 219

22500906375

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welMOmec
Coll. pam
No. WL 300
1912
P 63c

Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen.

Von

Giacomo Pighini.

I. Mitteilung.

Über die Indophenol-Oxydase im Zentralnervensystem, in der Tela chorioidea und in der Cerebrospinalflüssigkeit.

Von

Giacomo Pighini.

(Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium des Psychiatrischen Instituts in Reggio Emilia.)

(Eingegangen am 14. Mai 1912.)

Mit 3 Tafeln.

Zahlreiche, übereinstimmende Untersuchungen über die Physiologie und experimentelle Pathologie haben nunmehr festgestellt, welche fundamentale Bedeutung der Vorgang der Oxydierung für die normale Funktion des Zentralnervensystems hat.

Der bekannte Versuch Stensons betreffs beiderseitiger Unterbindung der Carotiden und der Ao. vertebralis beim Zentralnervensystem und die banale Beobachtung der Kompression der Arterien der Gelenke beim peripherischen Nervensystem lehren uns, daß eine kurze Unterbrechung des Blutkreislaufes, durch die die Oxydation des Gewebes aufgehoben wird, genügt, um momentan die Funktionen des Denkvermögens, der Sinnesorgane und der Bewegung in ihm aufzuheben, die wiederhergestellt werden, sobald das Blut die Nervenelemente wieder bespült. Wenn jedoch das Bedürfnis nach Sauerstoff auch eine wesentliche Lebenserscheinung des Nervengewebes ist, so scheint es sich doch nicht in einem größeren Verbrauch als bei den anderen Geweben zu äußern.

Die diesbezüglichen Untersuchungen sind nicht sehr zahlreich und stimmen auch nicht ganz miteinander überein; nach Winterstein[1]), der den Sauerstoffverbrauch des Nervengewebes vermittelst des Thunbergschen Respirometers gemessen hat, soll das Rückenmark des Frosches einen pro Gewichtseinheit 5 mal größeren Gasaustausch haben, als der des ganzen Organismus beträgt. Aber die vorausgehenden Untersuchungen von Hill und Nabarro[2]) — welche Autoren den Sauerstoff und die Kohlensäure des Blutes der Torcula Herophili und der Carotis vergleichend mit dem Sauerstoff und der Kohlensäure des A. femoralis und der Carotis quantitativ bestimmten — und die gleichzeitigen von Best[3]) und von Battelli und Stern[4]) über den Gasaustausch des zerfallenen Nervengewebes in vitro führten zum entgegengesetzten Resultat, da sich ergab, daß die Sauerstoffabsorption und die Kohlensäureausscheidung im Hunde- und Pferdegehirn geringer als in den anderen Organen sind, und daß das katalytische Vermögen des Gehirns auf das Wasserstoffsuperoxyd 150mal geringer als z. B. das der Leber ist.

Bekannt sind anderseits die sehr interessanten Untersuchungen P. Ehrlichs über das Sauerstoffbedürfnis der verschiedenen Organe, das aus dem Reduktionsvermögen gefolgert wurde, das sie auf spezielle Farbstoffe, wie Methylenblau oder Alizarinblau, ausüben können. Nach diesen Untersuchungen soll das Nervensystem zu den Organen gehören, die im Leben bei den genannten Farben keine Reduktion bewirken und erst nach dem Tode die Leukobase bilden, was nach der Anschauung Ehrlichs anzeigen soll, daß das Zentralnervensystem in vita und funktionierend mit Sauerstoff gesättigt ist oder wenigstens eine Sauerstoffspannung besitzt, die ausreicht und derart ist, daß sie den oxydierten Farbstoff erspart. Ehrlich selbst hatte eine andere colorimetrische Methode ersonnen, um das Reduktionsvermögen der einzelnen Organe zu erproben, eine Methode, die erst in jüngster Zeit wieder aufgenommen und mit neuen Kriterien beim Studium der Oxydasen der Gewebe verwendet worden ist: die Synthese des Indophenols aus den Mischungen von α-Naphthol und Dimethyl-p-Phenilendiamin. In seiner wohlbekannten 1885 erschienenen Monographie „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus — Eine farbenanalytische Studie" wollte Ehrlich durch die synthetische Bildung des Indophenols in seinen beiden Formen Blau und Leukoprodukt das Reduktionsvermögen der Gewebe und mithin ihre Gier nach Sauerstoff abschätzen. Als er die beiden Stoffe, vermischt oder getrennt, in die Venen injizierte, fand er kurz danach bei der Autopsie eine deutliche blaue Farbe im Herzen, in den Nieren, Muskeln

[1]) Winterstein, Über den Mechanismus der Gewebeatmung. Zeitschr. f. allg. Physiol. **6**, 315, 1907.

[2]) Hill and Nabarro, On the exchange of blood-gases in brain and muscle during states of rest and activity. Journ. of Physiol. **18**, 1895.

[3]) Best, Leçons sur la physiologie comparée de la respiration **1906**.

[4]) Battelli und Stern, Journal de physiol. et pathologie générale **1907**, No. 1, 2, 3.

und im Hirn, woraus er schloß, daß das Reduktionsvermögen in diesen Organen sehr schwach sei; dagegen nahm er bei den entfärbten Organen an, daß das Indophenolblau, das sich gebildet hatte, weiter zu Indophenolweiß reduziert worden sei.

Diese Erklärung wurde jedoch in der Folge für irrtümlich gehalten: das Leukoprodukt der Indophenolsynthese bildet sich nicht durch die Reduktion des gefärbten Produktes, wohl aber repräsentiert das letztere eine weitere Oxydationsphase des farblosen Produktes.

Röhmann und Spitzer[1]) erwiesen, wie der Prozeß sich abspielt: die Synthese des Indophenols durchläuft zwei aufeinanderfolgende Oxydationsphasen, von denen die erste die Leukoverbindung ist, die zweite die gefärbte Verbindung, nach folgender Formel:

$$C_6H_4(NH_2)_2 + C_{10}H_7OH + O = NH\begin{matrix}C_6H_4NH_2\\C_{10}H_6OH\end{matrix} + H_2O$$

$$NH\begin{matrix}C_6H_4NH_2\\C_{10}H_6OH\end{matrix} + O = N\begin{matrix}C_6H_4NH_2\\C_{10}H_6O\end{matrix} + H_2O$$

Diese allmählich dem Produkte bis zu seiner vollständigen Oxydation im Indophenolblau zugesetzten Sauerstoffatome können von der Atmosphäre geliefert werden, wenn die Mischung der beiden Stoffe lange Zeit hindurch der Luft ausgesetzt wird, oder auch unter augenfälliger Beschleunigung des Prozesses durch sowohl in den tierischen als pflanzlichen Geweben enthaltene spezielle Fermente. Die genannten Autoren Röhmann und Spitzer haben zuerst erkannt, daß verschiedene tierische Gewebe, wenn sie mit dem farblosen Gemisch der beiden Stoffe in Berührung gebracht werden, seine oxydative Synthese erleichtern; daraus haben sie gefolgert, in diesen Geweben müsse ein oxydierendes Ferment, eine Oxydase, enthalten sein.

Es ist hier nicht der Ort, die Lehre von den Oxydasen und ihren verschiedenen Einteilungen vorzutragen, je nachdem sie in Gegenwart von molekularem Sauerstoff oder von Superoxyden einwirken oder H_2O_2 unter Entwicklung von O_2 katalysieren. Gewiß ist, daß das auf die Synthese des Indophenolblaues einwirkende Ferment zur 1. Gruppe dieser Einteilung gehört, zu derjenigen, die Bach und Chodat unter der Bezeichnung „Oxygenasen" zusammenfassen, d. h. derjenigen albuminoiden Stoffe die, wie es scheint, sich mit dem biatomischen Sauerstoff zu einer Superoxydverbindung vereinigen und also ihren Sauerstoff an einen anderen Stoff abtreten. Zum Eintreten der Indophenoloxydase ist also erforderlich, daß sie in Anwesenheit von O_2 einwirkt; wie wir später sehen werden, gibt sie sich in den in vitro einwirkenden Geweben und außerhalb des Organismus nur zu erkennen in Anwesenheit des atmosphärischen Sauerstoffes.

---

[1]) Röhmann und Spitzer, Über Oxydationswirkungen tierischer Gewebe. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 567, 1897.

Die Methode des Eintauchens der Gewebe in die Mischung, die je nach dem Oxydationsvermögen der ersteren in kürzerer oder längerer Zeit blau wird, wurde in der Folge auch von anderen Forschern angewendet. Nur Abelous und Biarnes[1]) sowie Rosell[2]) experimentierten unter anderem auch am Nervensystem; die ersteren fanden eine sehr schwache Reaktion darin, Rosell eine negative, während die Aldehydreaktion sich als positiv herausstellte.

Eine neue Verwendung fand die Indophenolreaktion bei den Untersuchungen Winklers[3]), der mikrochemisch die Anwesenheit und Verteilung der Oxydase in den Blutkörperchen zu bestimmen suchte, indem er fixierte Präparate anfertigte und Schnitte von Geweben — Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark — behandelte, und bei den weiteren vollständigeren Untersuchungen von Lillie[4]) und Schultze[5]), die mit der Mischung Gefrierschnitte aus verschiedenen normalen und pathologischen Geweben behandelten.

Bezüglich des Zentralnervensystems also und seiner verschiedenen Bestandteile, wie Nervensubstanz, Tela choroidea, Cerebrospinalflüssigkeit, liegen bis jetzt keine speziellen Untersuchungen über die Anwesenheit und Verteilung der Indophenoloxydase vor, wenn wir von den mit ganz anderen Kriterien durchgeführten ersten Untersuchungen Ehrlichs, von den summarischen von Abelous und Biarnes sowie von denen von Rosell absehen, die an der in die Mischung Diamin-α-Naphthol getauchten Nervensubstanz in toto angestellt wurden und sich auf die Beobachtung der von der Mischung selbst angenommenen Färbung beschränkten.

Zur Ergänzung einer Reihe von Untersuchungen über die Chemie und Biochemie der Nervensubstanz, die eben in meinem Laboratorium angestellt werden, wollte ich eingehender die Frage der Indophenolsynthese studieren, die durch die verschiedenen das Zentralnervensystem bildenden Elemente bewirkt wird, indem ich zu diesem Zwecke die geeignetsten Untersuchungsmittel verwendete. Für das Zentralnervengewebe bediente ich mich der Imprägnierung von Stückchen Substanz,

---

[1]) Abelous et Biarnes, Hiérarchie des organes au point de vue du pouvoir oxydant. Compt. rend. Soc. de Biol. **3**, 262, 1876.

[2]) Rosell, Nachweis über Verbreitung intrazellulärer Fermente. Diss. Straßburg, 1901.

[3]) Winkler, Der Nachweis von Oxydase in den Leukocyten usw. Folia haematol. **55**, Heft 3, 1907.

[4]) Americ. Journal of Physiol. **7**, 412.

[5]) W. H. Schultze, Die Oxydasereaktion an Gewebsschnitten und ihre Bedeutung für die Pathologie. Zieglers Beitr. **45**, 1907.

die ich verschiedenen Segmenten der cerebrospinalen Achse entnahm, in Mischungen zu gleichen Teilen von 1%igem α-Naphthol und 0,30%igem Dimethyl-p-Phenylendiamin in physiol. Lösung, und mikroskopischer Präparate, die ich aus über präparierten Deckgläsern ausgespannten Gefrierschnitten von frischer Substanz herstellte; dabei verdunstete ich über ihnen (sie waren nach Cesaris Demel erwärmt) eine Mischung zu gleichen Teilen der beiden Stoffe, die zu 1% in absolutem Alkohol gelöst waren, nach der von Sapegno[1]) angegebenen ausgezeichneten Methode. Ich werde meine Resultate beim Zentralnervengewebe, bei der Tela choroidea und bei der Cerebrospinalflüssigkeit getrennt beschreiben; sie beziehen sich auf Untersuchungen, die am Frosch, Huhn, Meerschweinchen, Kaninchen, Rind, Hund und am Menschen gemacht wurden.

Nervengewebe.

Taucht man ein Stückchen Zentralnervengewebe — Hirn, Bulbus, Mark —, das Teile sowohl der weißen als der grauen Substanz enthält, in die Mischung Diamin—Naphthol in physiol. Lösung ein, so beginnt die Flüssigkeit nach 1 bis 2 Stunden blau zu werden, und das Stückchen nimmt darin eine diffuse bläuliche Färbung an. Nimmt man das Stück aus der Flüssigkeit und durchschneidet es in der Mitte, so erscheinen die beiden Schnittflächen vollständig entfärbt; läßt man sie jedoch der Luft ausgesetzt, so beobachtet man nach wenigen Minuten, daß alle die graue Substanz enthaltenden Bezirke sich blau zu färben beginnen, während die übrigen Bezirke mit weißer Substanz völlig farblos bleiben; nach ungefähr $^1/_2$ Stunde hebt sich die graue Substanz deutlich von der weißen ab durch ihre intensiv blaue Farbe, die sich unverändert 1 bis 2 Tage lang erhält, während die weiße Substanz die Farbe gar nicht annimmt.

Um nachzuweisen, daß die durch die graue Substanz bewirkte Indophenolsynthese durch die Einwirkung eines spezifischen Fermentes bedingt ist, wiederholte ich das Experiment, indem ich Stückchen Nervengewebe 15 Min. lang in siedendem Wasser kochte und das Experiment auf die beschriebene Weise wiederholte; die Schnittflächen erhielten sich in diesen Fällen

[1]) M. Sapegno, A proposito della reazione de Winkler-Schultze. Pathologica 2, 131, 1910.

farblos, ohne sich weiter zu differenzieren. Auch untersuchte ich, ob die oxydierende Wirkung des Fermentes sich nur in Anwesenheit von atmosphärischem Sauerstoff kundgibt; zu diesem Zwecke durchschnitt ich die Gewebsstückchen, nachdem ich sie längere Zeit in die Mischung eingetaucht hatte, rasch in der Mitte und tauchte sie in geeignete, Kohlensäureanhydrid enthaltende Gefäße, in denen ich während der ganzen Dauer des Experimentes eine andauernde Strömung des Gases unterhielt. Nun blieben aber die in die Kohlensäure eingetauchten Schnittflächen auch nach 5 bis 6 Stunden, während die der Luft ausgesetzten Kontrollstücke sofort in gefärbte graue Substanz und farblose weiße Substanz differenziert wurden, nicht differenziert weiß und begannen, nachdem sie aus diesem Medium entfernt und wieder in Kontakt mit dem atmosphärischen Sauerstoff gebracht worden waren, langsam wieder wie die Kontrollstücke zu reagieren. Diese Versuche beweisen, daß in der grauen Substanz des Zentralnervensystems ein oxydierendes Ferment vom Typus der Oxygenasen (Bach und Chodat) enthalten ist, das in Anwesenheit von O_2 die Synthese des Indophenolblaus beschleunigt.

Um die Verteilung des Oxydationsfermentes in der grauen Substanz eingehender zu studieren, verwendete ich Gefrierschnitte (Gefrierapparat Leitz mit Kohlensäure), die ich über nach der Methode Cesaris-Dehmel (wie oben bemerkt) präparierten Objektträgern ausbreitete. (Da es durchaus nicht leicht ist dünne [10 bis 12 μ) und vollständige Gefrierschnitte aus frischem Nervengewebe zu erhalten, zog ich es vor, an frischem Material zu arbeiten, das nicht mit Formol fixiert war, da letzteres die Resultate hätte ändern können). Auf dem präparierten Objektträger ausgebreitete Rindenschnitte der Hemisphären und des Kleinhirns beginnen sich nach wenigen Minuten elektiv blau in den Bezirken der grauen Substanz zu färben, während die weiße Substanz farblos bleibt. Werden sie direkt unter dem Mikroskop untersucht oder in Glycerin eingebettet mit Deckgläsern und verkittet, so erscheint die graue Substanz gleichförmig von einer diffusen blauen Färbung durchtränkt, die sich an den den Nervenzellen entsprechenden Stellen schärfer hervorzuheben scheint. Die Trennungslinie zwischen grauer und weißer Substanz ist durch den Unter-

schied in der Farbe der beiden Substanzen deutlich abgegrenzt.

Charakteristischer ist die Differenzierung im Rückenmark und in der Medulla oblongata. Beobachtet man einen Rückenmarksschnitt bei schwacher Vergrößerung, so nimmt man wahr, daß anfangs eine leichte blaue Färbung am Innenrande der beiden Hinterhörner erscheint, die sich bis zur ganzen Lissauerschen Zone ausdehnt, dann erscheinen bläuliche Flecke, entsprechend den großen Zellen der Vorderhörner; nach und nach verbreitet sich die blaue Färbung um diese Stellen herum und ergreift die ganze graue Substanz, indem sie sie deutlich von der weißen Substanz abgrenzt, in der keine Stelle (weder Markscheiden noch Achsenzylinder oder Glia) die Farbe annimmt. Bei stärkerer Vergrößerung beobachtet man, daß, während in den anderen Teilen die blaue Färbung diffus ist, sie sich auf den Nervenzellen in elektiverer Weise auf ganz feinen Körnchen zu lokalisieren scheint, die das Zellprotoplasma besetzen und sich mehr um den Kern herum verdichten, indem sie um ihn herum einen augenfälligen blauen Hof bilden; der Kern bleibt undifferenziert, leicht blau gefärbt wie die Masse des Protoplasmas um die Körnchen herum. Ich habe blaue Körnchen in keinem anderen Teile außer in den motorischen Zellen des Markes und des Bulbus beobachtet; die kleinen Zellen der Seiten- und Hinterhörner, wie die Zellen der grauen Rindensubstanzen erscheinen gleichmäßig blau gefärbt, und dieses Blau ist intensiver als in den umstehenden Teilen. Es scheint also, daß bei der grauen Substanz ein — wahrscheinlich flüssiger — Stoff diffundiert ist, der sich bei der Synthese des Indophenols blau färbt, und daß außerdem im Protoplasma der Nervenzellen der Vorderhörner des Markes besondere Oxydasekörnchen vorhanden sind, die namentlich um den Kern herum angehäuft sind und die Farbe intensiver annehmen.

Tela chorioidea.

Ich habe Versuche mit der Indophenolsynthese an der Tela choroidea beim Frosch, Huhn, Meerschweinchen, Kaninchen, Rind, Hund und beim Menschen angestellt. Die Tela wurde sorgfältig auf Objektträgern ausgespannt, die mit der verdunsteten alkoholischen Lösung der beiden Stoffe präpariert

worden waren, und hierauf unter dem Mikroskop verfolgt; das Präparat wurde dann eventuell in Glycerin eingebettet. Gleichzeitig wurden zur Kontrolle und um die Elemente zu differenzieren, Präparate mit der supravitalen Nilblaufärbung (gesättigte 1 %ige Brillantcresylblaulösung in physiol. Lösung, mit Sudan III, Neutralrot und Dämpfen von Osmiumsäure) hergestellt.

Ich will gleich erwähnen, daß die Tela chorioidea aller untersuchten Arten lebhaft auf die Oxydationssynthese des Indophenolblaus reagiert: ihre Epithelelemente, wie alle anderen Epithelien des Organismus, beginnen sich nach wenigen Minuten blau zu färben. Verfolgt man unter dem Mikroskop die Phasen der Färbung, so beobachtet man, daß sie sich nach einem allen untersuchten Arten gemeinsamen Typus vollzieht; die Epithelzapfen nehmen in ihrer Gesamtheit eine blaue Färbung an und treten deutlich auf dem farblosen Grund des umstehenden Binde- und Gefäßgewebes hervor (Tafel I, Fig. 1, Mikrophotographie, Tela chorioidea des Rindes, bei schwacher Vergrößerung: Ob. 4, ohne Okular).

Untersucht man nach 15 bis 20 Min. bei stärkerer Vergrößerung (bei Eintauchen der in Glycerin eingebetteten Präparate), so sieht man, daß jede Epithelzelle mit winzigen blauen Körnchen besät ist, die stärker an der Peripherie sind, wo sie einen intensiv gefärbten Ring bilden, der deutlich jede Zelle von der anderen abgrenzt (Tafel I, Fig. 2, Rind, $\frac{\text{Ok. 3}}{\text{Ob. 8}}$; Tafel II, Fig. 1, Meerschweinchen, $\frac{\text{Ok. 3}}{\text{Ob. 8}}$).

Beim Frosch, Huhn, Rind, Hund und beim Menschen färbt das Indophenolblau nur die beschriebenen Zellkörnchen; beim Meerschweinchen und Kaninchen dagegen färbt es außer ihnen auch andere Elemente. Beim Meerschweinchen nehmen in einem zweiten Zeitabschnitt, wenn die Zellkörnchen schon gefärbt sind, die großen kugelförmigen Anhäufungen von lipoider Substanz, die sich in besonderen Gebieten der Tela ansammeln, eine veilchenartige Färbung an, die allmählich immer intensiver wird. (Tafel II, Fig. 2, Meerschweinchen, $\frac{\text{Ok. 3}}{\text{Ob. 8}}$). Diese Färbung ist nicht durch eine oxydative Einwirkung der Fettkugeln bedingt, da sie ja erst spät eintritt, d. h. wenn das Indophenolblau sich

schon im Gewebe gebildet hat. Diese Kügelchen färben sich nämlich sofort violett, wenn sie mit Indophenol behandelt worden sind, und es ist anderseits bekannt (Herxheimer), daß das Indophenol ein Färbemittel für die Fette ist. Ihre violette Färbung inmitten der Tela chorioidea hängt also von der Annahme des Indophenolblaus ab, das sich in ihnen nun unter der Einwirkung des Zellfermentes und des Fermentes gebildet hat, das, wie wir sehen werden, in der Cerebrospinalflüssigkeit, von der die Drüse durchtränkt ist, enthalten ist.

Kugelförmige Fettmassen finden sich auch ausnahmsweise in der Tela chorioidea des Kaninchens, namentlich beim trächtigen Kaninchen, und nehmen gleichfalls violette Färbung an. Beim Kaninchen haben wir sodann eine neue Besonderheit, die das Aussehen seiner Tela chorioidea von dem aller anderen Arten unterscheidet. Beobachtet man bei schwacher Vergrößerung die Tela kurze Zeit nach ihrer Ausspannung auf dem Objektträger, so sieht man zahlreiche blaue Kügelchen längs der Linien der Epithelzapfen der Drüse so zerstreut, daß sie ihre Zellstruktur verdecken (Tafel III, Fig. 1, Kaninchen, Ob. 4, ohne Okular).

Bei stärkerer Vergrößerung $\left(\text{Tafel III, Fig. 2 } \frac{\text{Ok. 3}}{\text{Ob. 8}}\right)$ erscheinen diese Globula von kugelförmiger Gestalt, von verschiedener Größe, mit homogenem Inhalt.

Um mich hinsichtlich der morphologischen Bedeutung dieser Körnchen zu orientieren, untersuchte ich gleichzeitig mit Nilblau und mit Brillantcresylblau gefärbte Plexus chorioidei; alsdann ist es leicht, die vollkommene Übereinstimmung zu konstatieren, die sich bei dem Bild der vom Indophenol blau gefärbten kugelförmigen Globuli und den intra- und infrazellulären Globuli zeigt, die vom Brillantcresylblau hellblau mit intensiverem Saum gefärbt und deutlicher vom Nilblau unterschieden sind durch die gelbrötliche Färbung, die sie von jedem anderen Element des Gewebes differenziert. Diese kugelförmigen Tropfen erscheinen also als eine besondere Bildung der Tela chorioidea des Kaninchens — bei den anderen Arten konnte ich sie nicht beobachten — und die kleinsten sind innerhalb der Epithelzellen enthalten, während die größten zwischen den letzteren zerstreut sind; sie unterscheiden sich

deutlich von den sekretorischen Kugeln (Globoplasten Schläpfers, sekretorische Kugeln Pellizzis) der Drüsen selbst, die entfärbt und nur blau oder violett gefärbt an der Peripherie in den Nilblau und Brillantcresylblaupräparaten erscheinen, und von den kugelförmigen Fettanhäufungen, die sich unter Umständen darin vorfinden können und, wie schon bemerkt wurde, eine violette Färbung annehmen. Die kugelförmigen Tropfen der Tela chorioidea des Kaninchens, die die Indophenolreaktion so intensiv geben, enthalten unzweifelhaft das spezifische Ferment; infolge Erhitzens auf 80° während 30 Min. nehmen sie nämlich die Eigenschaft an, die Mischung zu synthetisieren, und auf dem Objektträger gehalten nehmen sie, wenn sie in Kohlensäure enthaltender Umgebung präpariert wurden, keine Färbung an, da die ganze Drüse farblos bleibt.

Außer den beschriebenen Tropfen reagieren die Epithelzellen der Drüse nach Verlauf einer kurzen Zeit auf die Indophenolsynthese, indem sie die schon bei den anderen untersuchten Arten beschriebenen, namentlich an der Peripherie dicht gedrängten feinen Körnchen zeigen; die Färbung dieser Körnchen vollzieht sich jedoch viel langsamer und bleibt blasser im Vergleich zur Färbung der beschriebenen intra- und infrazellulären Tropfen (Tafel III, Fig. 2).

In den Präparaten mit Sudan III nehmen diese letzteren Tropfen eine orangegelbe Färbung an, und eine bräunliche, wenn sie Dämpfen von Osmiumsäure ausgesetzt werden; mit Chloroform behandelt und hierauf der Indophenolreaktion unterzogen, reagieren sie sehr schwach; mit Nilblau, wie ich schon sagte, färben sie sich rötlich-gelb (das Nilblau färbt, wie durch die schönen Untersuchungen Kawamuras[1]) bekannt ist, die Glycerinester rot, die Cholesterinester und die Mischungen von Cholesterin und Fettsäuren in rötlicher Nuance, die sich sehr der von unseren Globuli angenommen Färbung nähert).

Aus der Gesamtheit dieser Reaktionen ergibt sich, daß die die Oxydasen enthaltenden intra- und extraglobulären Tropfen aus einer vorwiegend lipoiden Substanz (Gemisch aus Cholesterin und Fettsäuren?) bestehen, die ohne Zweifel Bedeutung für den Stoffwechsel der umstehenden Nervensubstanz besitzt.

Cerebrospinalflüssigkeit.

Cavazzani hat unter dem Namen Cerebro-Spinase ein in der Cerebrospinalflüssigkeit des Hundes und des Kalbes

[1]) R. Kawamura, Die Cholesterinesterverfettung. Jena 1911.

enthaltenes Ferment beschrieben, das die Eigenschaft zeigt, Guajactinktur, Pyrogallussäure, Galläpfelsäure, Hydrochinon und Orthotoluidin zu oxydieren: diese Merkmale würden das Ferment unter den Oxygenasen von Bach-Chodat einreihen lassen.

Da die anderen Versuche Cavazzanis[1]) über die Anwesenheit eines glykolytischen Fermentes in der Flüssigkeit nicht bestätigt worden sind [Panzer[2]), Lewandowsky[3])], und da die Anwesenheit einer Oxydase auch als eine sekundäre Verbreitung des Fermentes in der Flüssigkeit infolge Abtrennung von roten Blutkörperchen oder anderen eventuell ihr beigemischten Elementen erklärt werden kann, infolge eines technischen Mangels [Gerhartz[4])], so trug ich Sorge dafür, die besten experimentellen Bedingungen zu schaffen für das Aufsuchen der Oxydase, die infolge eines ähnlichen Prozesses wie der bei Cavazzanis Cerebro-Spinase eintretende die Indophenolreaktion ergab. Meine Untersuchungen beziehen sich vor allem auf Cerebrospinalflüssigkeit vom Menschen, von der man mittels der Quinckeschen Punktur leicht beträchtliche Mengen extrahieren kann, ohne daß Verunreinigungen vorkommen; einige Experimente wurden an der Flüssigkeit des Hundes wiederholt, die ich vermittels Punktur des Ligamentum atlanticum-occipitalis extrahiert hatte.

Nachdem einige Tropfen herausgekommen waren, wurde die Flüssigkeit in sterilem Reagensglas aufgefangen und lange Zeit mit der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert, in Pipetten gefüllt und zur Reaktion in sterile Reagensgläser mit einer Mischung von 1%igem α-Naphthol und 0,30%igem Diamin in physiol. Lösung gebracht. Bei allen meinen Experimenten verwendete ich 1 ccm Flüssigkeit + 2 Tropfen einer jeden der beiden Lösungen. Ich verwendete bei ihnen vier Flüssigkeiten von Personen, die als physisch gesund betrachtet werden konnten (2 geheilte Alkoholisten und 2 Phrenastheniker); 8 Flüssigkeiten

[1]) E. Cavazzani, Weiteres über die Cerebrospinalflüssigkeit. Centralbl. f. Physiol. **10**, 145, 1896.

[2]) Th. Panzer, Zur Kenntnis der Cerebrospinalflüssigheit. Wiener klin. Wochenschr. **1899**, Heft 3.

[3]) M. Lewandowsky, Zur Lehre von der Cerebrospinalflüssigkeit. Zeitschr. f. klin. Med. **40**, 480, 1900.

[4]) H. Gerhartz, Chem. d. Lymphe, Handb. d. Biochem. **2**, Heft 7, S. 127.

von Epileptikern, von denen ich einige vor, andere nach dem Anfall entnahm; 5 Flüssigkeiten von Dementes praecoces; 5 Flüssigkeiten von progressiven Paralytikern. In allen diesen Fällen beginnt sich nach ungefähr 20 Min. (auch nach 10 Min, wenn sie in den Thermostaten bei 37° gebracht wurden) eine leichte blaue Färbung zu zeigen, die nach 30 bis 40 Min. deutlich blau und immer intensiver wird; die Kontrollgläser dagegen, die als Flüssigkeit physiol. Lösung enthalten, bleiben farblos und färben sich erst nach mehreren Stunden. Ich habe keine bemerkenswerten Unterschiede in der Zeit der Färbung der Flüssigkeiten gefunden; ich habe den Eindruck, als ob in den Fällen von Dementia praecox eine kurze Verzögerung in der Färbung eintritt; aber um dies zu bestätigen, müßten noch weitere Versuche angestellt werden.

Auch die Cerebrospinalflüssigkeit des Hundes reagiert unter denselben Bedingungen auf das Indophenol. Alle vorher gekochten Flüssigkeiten verhielten sich wie die Kontrollflüssigkeiten.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich also, daß in der Flüssigkeit ein oxydierendes Ferment vorhanden ist, das die Synthese des Indophenolblaus hervorruft und wahrscheinlich mit dem Ferment zu identifizieren ist, das Cavazzani schon unter dem Namen Cerebrospinase beschrieben hat.

Die Indophenol-Oxydase ist also im Zentralnervensystem reichlich vertreten, an bestimmten Stellen desselben und des Drüsengewebes der Tela chorioidea verteilt und in der Cerebrospinalflüssigkeit verbreitet. Da die letztere — wie die glaubwürdigsten Untersuchungen von Luschka zu beweisen bestrebt sind — eine Absonderung des Drüsengewebes der Chorioidea ist, so läßt sich annehmen, daß die in ihr enthaltene Oxydase von den in den Zellen der Drüse enthaltenen Fermentkörnchen herstammt, wie sich anderseits vermuten läßt, daß das in der ganzen grauen Substanz mit Ausnahme der in den Zellen der Vorderhörner enthaltenen Körnchen konstatierte, nicht an besondere Strukturen gebundene Ferment in einem durch das Gewebe verbreiteten flüssigen Mittel aufgelöst ist und direkt aus dem Ferment mit der Cerebrospinalflüssigkeit herstammt. Wenig Positives ist bis jetzt bekannt

über die Zirkulation der Cerebrospinalflüssigkeit im Zentralnervensystem und über die Rolle, die sie beim Stoffwechsel der Nervenelemente spielt. Viele Tatsachen bezeugen uns ohne Zweifel, daß sie sich aktiv an diesen Vorgängen beteiligt: die unmittelbaren funktionellen und anatomischen Veränderungen, die auf die Einführung von Giften oder Toxinen in die Subarachnoidalhöhle folgen, die rasche Erregbarkeit oder die rasche Anästhesie, die auf intrarachidiane Injektionen von speziellen Medikamenten folgt, die Verbreitung in der Flüssigkeit von Abbauprodukten des Nervengewebes — Cholin (Mott und Halliburton, Donatt), Cholesterin (Pighini), Phosphorsäure (Apelt und Schumm).

Man kann also annehmen, daß die Cerebrospinalflüssigkeit, indem sie um die Nerven- und Gliaelemente der grauen Substanz herum zirkuliert, auch die Oxydase dorthin trägt, die sie enthält, und inmitten dieses Gewebes reagiert, indem sie sich diffus blau färbt. Natürlich entsteht der Einwand, daß man eine gleiche Zirkulation auch bei der weißen Substanz annehmen könnte, die dagegen beim Reaktionsvorgang farblos bleibt: hier muß man notwendigerweise schließen, daß uns in dieser Hinsicht die fundamentalen anatomischen Kenntnisse fehlen, und daß wir mit Hilfe unserer einfachen Färbungsreaktion eine so wichtige Frage nicht entscheiden können.

Auf jeden Fall erscheint es uns von nicht gering anzuschlagendem Nutzen, daß wir konstatiert haben, daß nur in der grauen Substanz, d. h. in dem Teile des Zentralnervensystems, der seine wichtigsten Funktionen versorgt, ein oxydatives Ferment existiert, das darin gewiß eine wichtige Funktion versehen wird.

Die jüngsten Untersuchungen von S. Fränkel und seiner Mitarbeiter weisen darauf hin, daß bei den Vorgängen der Atmung des Gewebes, der Assimilation und der Auswahl des Materials aus dem Kreislauf der ungesättigten Phosphatide der Hirnsubstanz, deren wichtigster Repräsentant das Kephalin ist, großer Wert beizumessen ist. Für diese chemischen Bestandteile des Gehirns, die durch ihre große Gier nach Sauerstoff charakterisiert sind, wird ein oxydatives Ferment wie dasjenige, das Indophenol synthetisiert, wahrscheinlich eine wichtige Funktion versehen.

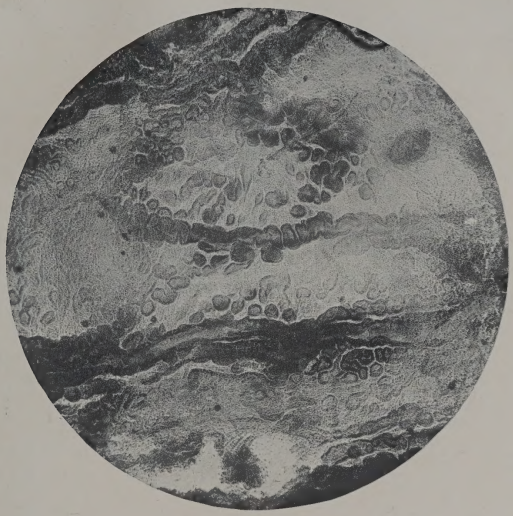

Fig. 1.

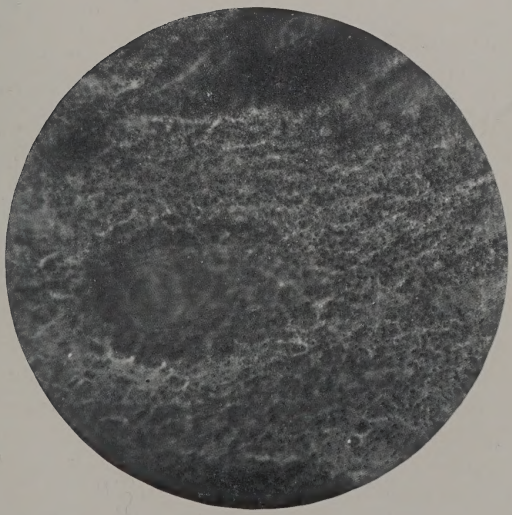

Fig. 2.

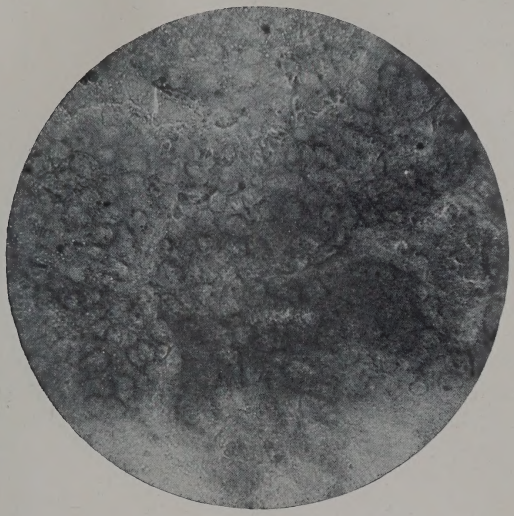

Fig. 1.

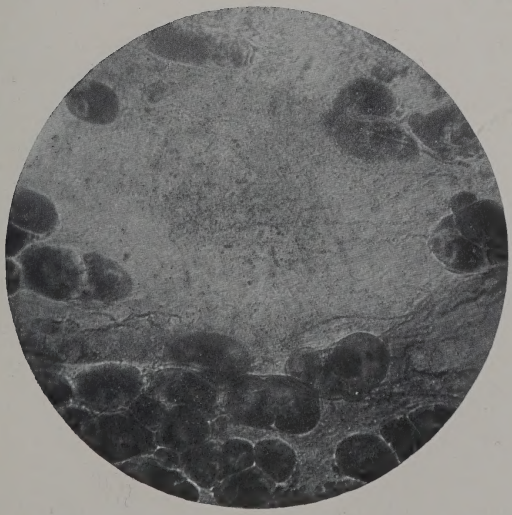

Fig. 2.

Tafel III.

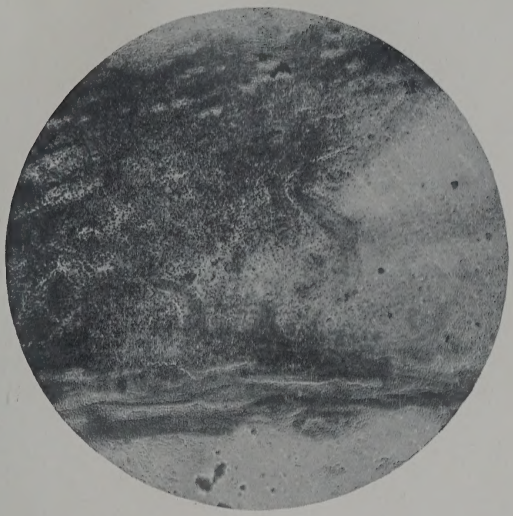

Fig. 1.

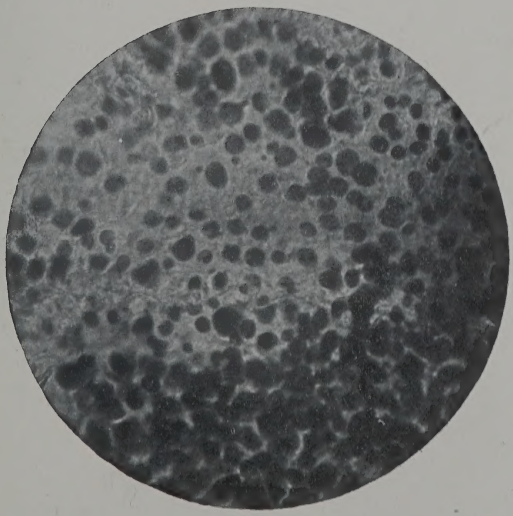

Fig. 2.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

Vor kurzem erschien:

Die Arzneimittel-Synthese

auf Grundlage der Beziehungen zwischen chemischem Aufbau und Wirkung

Für Ärzte, Chemiker und Pharmazeuten

von

Dr. Sigmund Fränkel

a. o. Professor für medizinische Chemie an der Wiener Universität

Dritte, umgearbeitete Auflage

823 Seiten. Preis M. 24,—; in Halbleder gebunden M. 26,50

Aus den ersten Urteilen der Fachpresse.

Österreichische Chemiker-Zeitung, XV. Jahrgang, Nr. 6.

Die nunmehr vorliegende dritte Auflage wurde in vielen Punkten erweitert, teilweise umgearbeitet und betreffs der verwendeten Literatur bis Oktober 1911 auf den Stand gebracht. In der Anlage des Werkes selbst, das in klarer Darstellungsweise und übersichtlicher Beherrschung des komplizierten Stoffes wohl kaum zu übertreffen ist, trat keine Veränderung ein, doch wurden einzelne Kapitel durch Unterteilung übersichtlicher gestaltet und einige früher nur kurz behandelte Abschnitte zu eigenen Kapiteln erweitert ....

Neu aufgenommen wurde eine sehr interessante Zusammenstellung der auf die Morphinsynthese bezüglichen Versuche ....

Den größten Wert des Fränkelschen Buches, durch den auch die große Verbreitung und Wertschätzung erklärt wird, bildet die Anleitung zum gruppenweisen Betrachten der Arzneimittel nach chemischen und pharmakodynamischen Grundsätzen und das Aufdecken der gegenseitigen Beziehungen, sowie das Zurückführen auf gewisse Muttersubstanzen. Es verhindert dadurch, daß schon Bekanntes nach Vornahme unwesentlicher Modifikationen als Neuheit wieder entdeckt wird und hilft die Flut neuer Arzneimittel eindämmen. Wie der Studierende, der allerdings ein gewisses Maß von Wissen mitbringen muß, an der Hand dieses Buches einen Einblick in das verwickelte Verhältnis zwischen Konstitution und Wirksamkeit erhält, ebenso öffnet sich auch dem mit dem Stoffe schon Vertrauten wie bei keinem anderen derartigen Werke ein orientierender Überblick, aus dem neue Anregungen geschöpft werden können. **Mo Bler.**

Berliner klinische Wochenschrift, Nr. 21, 1912.

Dieses ausgezeichnete Werk gewinnt bei jeder neuen Auflage. Bei dem gegenwärtigen Stande der Forschung, in dem die Praxis wieder mit Spannung die Ergebnisse der chemisch-pharmakologischen und chemisch-therapeutischen Studien verfolgt, wird dieser vortreffliche Führer zahlreichen Chemikern und Ärzten die wertvollsten Dienste leisten. **Martin Jacoby.**

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

Soeben erschien:

Das Mikroskop und seine Anwendung.

Handbuch der praktischen Mikroskopie und Anleitung zu mikroskopischen Untersuchungen.

Von

Dr. Hermann Hager.

Nach dessen Tode vollständig umgearbeitet und in Gemeinschaft mit

Dr. O. Appel,
Regierungsrat u. Mitglied der Kaiserl. biologischen Anstalt für Land- u. Forstwissenschaft zu Berlin-Dahlem

Dr. G. Brandes,
Professor der Zoologie an der tierärztlichen Hochschule u. Direktor des zoolog. Gartens zu Dresden

Dr. P. Lindner,
Professor am Institut für Gärungsgewerbe zu Berlin

Dr. Th. Lochte,
Professor der gerichtlichen Medizin an der Universität und Kreisarzt zu Göttingen

neu herausgegeben von

Dr. Carl Mez,
Professor der Botanik an der Universität und Direktor des botan. Gartens zu Königsberg.

Elfte, umgearbeitete Auflage.

Mit 471 in den Text gedruckten Figuren.

In Leinwand gebunden Preis M. 10,—.

Vor kurzem erschien:

Die Reizbewegungen der Pflanzen.

Von

Dr. Ernst G. Pringsheim,
Privatdozent an der Universität Halle.

Mit 96 Abbildungen.

Preis M. 12,—; in Leinwand gebunden M. 13,20.

Inhaltsübersicht:

Vorwort. — I. Einleitung.
II. Das pflanzliche Bewegungsvermögen.
III. Die Reizwirkungen der Schwerkraft.
IV. Heiligkeit und Temperatur als Reizmittel.
V. Richtungsbewegungen auf Lichtreiz.
VI. Die Folgen mechanischer Reizung.
VII. Reizwirkung stofflicher Einflüsse.
VIII. Allgemeines.
Literaturübersicht. — Sachverzeichnis.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.